

1/3

D2

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **08-094573A**
 (43)Date of publication of application : **12.04.1996**

(51)Int.Cl. **G01N 27/30**

G01N 27/327

(21)Application number : **06-224809**

(71)Applicant : **TOPPAN PRINTING CO LTD**

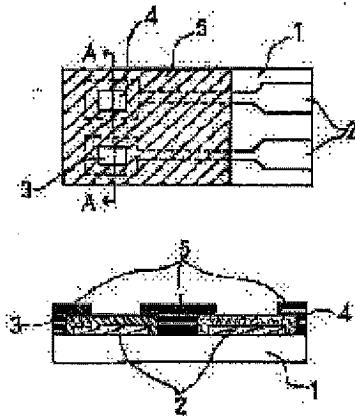
(22)Date of filing : **20.09.1994**

(72)Inventor : **MORIMITSU YOSHINORI
ARAI JUNICHI
AIZAWA MASUO**

(54) ENZYME ELECTRODE**(57)Abstract:**

PURPOSE: To provide a disposable enzyme electrode excellent in responsiveness and stability by providing a counter electrode by application of a layer composed chiefly of silver chloride on a layer composed chiefly of silver.

CONSTITUTION: A silver-evaporated film 2 which is 5000angstrom; thick is vacuum deposited on a polyethylene terephthalate film 1 which is about 180μm thick, so as to serve as a bed layer for a lead portion and for a counter electrode. 20 parts by weight of carbon black, 20 parts by weight of silver chloride powders, 50 parts by weight of 25%-polyester-resin acetone solution are kneaded in a mortar, and a silver chloride layer 3 is provided on the counter electrode portion of the evaporated film 2 by casting method to form the counter



electrode. An enzyme-containing conducting ink layer 4 is provided in a position opposite to the counter electrode, and an insulating polymer layer 5 is provided, with an electrode portion left behind. In this structure, the silver chloride thinly covers the surface of the silver, establishing contact between the silver and the silver chloride so that the transfer of electrons is made easier, which is close to an ideal state. Therefore, high potential stability can be achieved.

[Claim 1] An enzyme electrode, comprising an electrode system having at least a working electrode and a counter electrode which are provided on an insulating substrate, wherein the counter electrode comprises a layer that is composed mainly of silver chloride and formed by coating on a layer composed mainly of silver.

[Claim 2] The enzyme electrode of Claim 1, wherein the layer composed mainly of silver chloride comprises an ink composition including at least carbon black, a silver chloride powder and a binder.

[Claim 3] The enzyme electrode of Claim 1, wherein the working electrode comprises an electrically-conductive ink composition including at least an electrically-conductive powder, an enzyme, an electron-transfer substance, and a binder and is formed by a printing method.

Detailed Descriptions of the Invention:

[0013] The working electrode is formed using an electrically-conductive ink composition including at least an electrically-conductive substance, an enzyme, an electron-transfer substance, and a binder. The electrically-conductive powder to serve as an electrode may include a metal, an oxide thereof, or a pigment such as carbon or graphite. In view of cost, surface hydrophilicity, suitability for the ink composition and so on, the electrically-conductive powder is preferably carbon black.

[0014] The enzyme to be contained in the ink composition may be any oxidoreductase, and, for example, glucose oxidase, cholesterol oxidase, lactate oxidase, alcohol oxidase, xanthine oxidase, pyruvate oxidase, aldehyde oxidase, or the like may be used. The amount of the addition of the enzyme may be changed depending on the activity of each enzyme. Since the enzyme is expensive, the content of the enzyme is preferably as low as possible in the range where the performance is offered.

[0015] The electron-transfer substance may be any redox compound capable of functioning as an electron carrier for the oxidoreductase. Examples of the electron-transfer substance include ferrocene and derivatives thereof, benzoquinone, methylene blue, 2,6-dichloroindophenol, and metallocyanide complexes. Any of these substances may be dispersed into a general-purpose binder, and the resulting enzyme-containing electrically-conductive ink composition may be applied by a printing method so as to oppose to the counter electrode on the insulating substrate provided with leads.

[0017] <Example 1> An exemplary enzyme electrode for use in measurement of glucose in blood is shown below. A vapor-deposited silver film 2 with a thickness of 5,000 Å for serving as both a lead portion and an underlying silver layer for a counter electrode was formed on a 180 µm thick polyethylene terephthalate film 1 by a conventional vacuum deposition method. A silver chloride ink composition was prepared by thoroughly kneading and dispersing, in a mortar, 20 parts by weight of carbon black, 20 parts by weight of a silver chloride powder, and 50 parts by weight of an acetone solution of 25% of a polyester resin (VYLON 200 manufactured by TOYOB CO., LTD.) as a binder polymer. The silver chloride ink composition was deposited on the counter electrode

portion of the previously-formed, vapor-deposited silver layer 2 by a casting method to form a silver chloride layer 3, so that a silver/silver chloride counter electrode was formed.

[0018] 10 g of acetylene black (manufactured by ADEKA CORPORATION), 1 g of potassium ferricyanide, 20 g of a 10% carboxymethylcellulose solution, 40 g of a solution of 10% of a polyester resin Elitel UE-3200 (manufactured by UNITIKA LTD.), and 100 g of cellosolve acetate were mixed and dispersed in a triple roll mill. A solution of 0.5 g of glucose oxidase (manufactured by KANTO CHEMICAL CO., INC.) in a 0.1 M phosphate buffer was added to the mixture and mixed to form a uniform mixture. The resulting, enzyme-containing, electrically-conductive ink composition was applied by screen printing to a position opposed to the counter electrode, so that an enzyme-containing, electrically-conductive ink layer 4 was formed.

[0019] An insulating polymer layer 5 was formed thereon, while the electrodes were partially left uncovered (Fig. 1).

....

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-94573

(43)公開日 平成8年(1996)4月12日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
G 01 N 27/30 27/327	3 1 1 Z			
			G 01 N 27/30 3 5 3 Z 3 5 3 J	

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 5 頁)

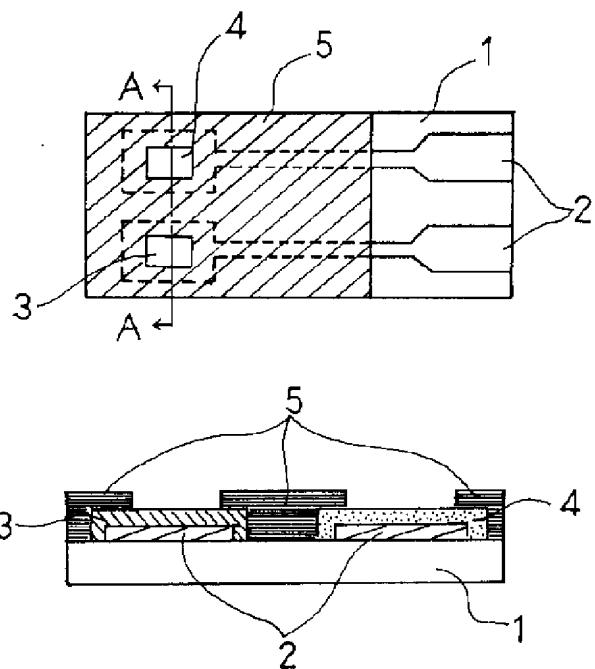
(21)出願番号	特願平6-224809	(71)出願人	000003193 凸版印刷株式会社 東京都台東区台東1丁目5番1号
(22)出願日	平成6年(1994)9月20日	(72)発明者	守満 美紀 東京都台東区台東1丁目5番1号 凸版印 刷株式会社内
		(72)発明者	新井 潤一 東京都台東区台東1丁目5番1号 凸版印 刷株式会社内
		(72)発明者	相澤 益男 東京都台東区台東1丁目5番1号 凸版印 刷株式会社内

(54)【発明の名称】 酵素電極

(57)【要約】

【目的】優れた応答性と安定性を持ち、大量生産技術により製造可能な一回限りの使い捨て酵素電極を提供する。

【構成】絶縁性基板上に設けられた少なくとも作用極と対極とを有する電極系において、対極が、銀を主体とする成分からなる層の上に、塩化銀を主体とする層を塗工により重ねて設けた酵素電極である。実施態様としては、前記塩化銀を主体とする層が少なくともカーボンブラック、塩化銀粉末、バインダーを含むインキである酵素電極、あるいは前記作用極が少なくとも導電性粉末、酵素、電子伝達物質およびバインダーを含む導電性インキからなり、印刷方式により形成された酵素電極が挙げられる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】絶縁性基板上に設けられた少なくとも作用極と対極とを有する電極系において、対極が、銀を主体とする成分からなる層の上に、塩化銀を主体とする層を塗工により設けたことを特徴とする酵素電極。

【請求項2】請求項1において、前記塩化銀を主体とする層が少なくともカーボンブラック、塩化銀粉末、バインダーを含むインキであることを特徴とする酵素電極。

【請求項3】請求項1において、前記作用極が少なくとも導電性粉末、酵素、電子伝達物質およびバインダーを含む導電性インキからなり、印刷方式により形成されたことを特徴とする酵素電極。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、血液、尿等の体液や、食品中に含まれる生体関連物質の濃度を簡易に定量する酵素電極に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、検量線の校正や電極の洗浄が不要すなわちメンテナンスフリーで、小型の使い捨て型の酵素電極が注目されている。この使い捨て電極は、リードを設けた絶縁性基板上に少なくとも、酵素反応を行なう作用極と対極を形成した構造となっている。このような構造においては、対極は、酵素電極の作用極で発生した電子を収容するとともに、測定電位を決定する参照極としての働きも同時に用うことが必要である。すなわち、基準電位を示さなければならぬ。

【0003】参照極としては、再現性が良く、簡易に作製が可能な銀／塩化銀電極が一般的に広く用いられている。その作製方法としては、(イ)メッキにより形成した銀層の表面を、電解処理または化学処理にて塩化銀とする方法、(ロ)銀層を蒸着、スパッタ等の方法によって形成した後に、電解処理または化学処理にて表面に塩化銀を形成する方法、(ハ)銀箔を張った電極の表面を電解処理または化学処理して塩化銀を形成する方法、(ニ)銀粉末と塩化銀粉末、他の銀化合物を混合、プレスして対極を形成する方法(特開昭62-43556号等)、(ホ)銀粉末と塩化銀粉末を高分子等のバインダーとともに混合して対極を形成する方法(特開平2-90052号等)、等が知られている。

【0004】しかしながら、(イ)(ロ)(ハ)の方法は塩化銀の形成処理方法が湿式であるため、工程が複雑である、処理液の管理に注意を要する、等の問題点がある。また、性能的にも、電解方式により形成した塩化銀膜は機械的に弱く、物理的に破損しやすいという欠点を持ち合わせている。また(ニ)では、電気抵抗が 10^4 ～ 10^5 オーム／cmと大きく内部抵抗が大きくなるため、電位測定用には適用できるが電流測定用としては不適である、すなわち、参照極としては良いが対極としてはうまく働かないという欠点がある。

【0005】(ホ)の方法は、作成方法も容易で、安価で大量生産に適した方法である。しかしながら、金属と金属化合物と共に混合する方法では、金属の表面に接触して金属化合物の膜が形成されている様な状態を形成することが非常に困難であり、性能的には不十分なものとなっている。さらに、特開平2-90052号は、参照極としての働きのみを実現したものであり、対極としての働きについては加味されていないため(ニ)同様対極としてはうまく働かないという欠点がある。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】よって本発明が解決しようとする課題は、優れた応答性と安定性を持ち、大量生産技術により製造可能な一回限りの使い捨て酵素電極を提供する事である。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、絶縁性基板上に設けられた少なくとも作用極と対極とを有する電極系において、対極が、銀を主体とする成分からなる層の上に、塩化銀を主体とする層を塗工により重ねて設けた酵素電極である。実施態様としては、前記塩化銀を主体とする層が少なくともカーボンブラック、塩化銀粉末、バインダーを含むインキである酵素電極、あるいは前記作用極が少なくとも導電性粉末、酵素、電子伝達物質およびバインダーを含む導電性インキからなり、印刷方式により形成された酵素電極が挙げられる。

【0008】以下詳細に説明する。本発明の酵素電極は、絶縁性基板上にリード部を設け、その上に対極および作用極を形成した構造をしている。絶縁性基板としては、セラミック、ガラス、ガラスエポキシ、プラスチック等、検液によって侵されないものであればなんでもよいが、使い捨てであるため安価で扱い易いポリ塩化ビニル、ポリエステル、ポリエチレン、ポリプロピレン等のプラスチックフィルムが好ましい。

【0009】この絶縁性基板上に、印刷、メッキ、蒸着、スパッタ等の方法によってリード部を設ける。あるいは、プリント配線盤のように絶縁性基板上に金属等の箔を張り合わせてあるものをエッチング等の方法によって必要部分のみを残したもの用いてもよい。対極の下層となる銀を主体とする層の形成方法としては、メッキによる形成、蒸着、スパッタ等のイオンプレーティングによる方法、バインダー成分と混合して塗工する方法(印刷を含む)等が挙げられ、とくに限定されないが、製造方法の簡易性から、印刷による形成が好ましい。

【0010】この場合、市販の回路用銀ペーストを用いてもよいし、銀粉末を適当なバインダー中に分散して作ったペーストを用いてもよい。ただし、中に含まれる銀粒子がさらに上に設ける塩化銀層中の塩化銀粒子と接触できるように、銀の含有量は、50%以上、さらに好ましくは65%以上である。その上に、塩化銀を主体とした塩化銀層を形成する。塩化銀を適当なバインダーとと

もにペースト状とし、インキジェット法、ノズルコーティング法、ディスペンサー印刷、キャスティング、スクリーン印刷等の方法によって銀層上に塗工し、塩化銀層を形成する。効率よく大量に、均一なものを形成するには、特にスクリーン印刷法が好ましい。

【0011】さらに、導電性を高めるためにはカーボンブラックを混合することができる。塩化銀粉末とカーボンブラックの割合は、1/1～19/1が好ましい。これにより、下層の銀と塩化銀がより良い状態で接触するからである。

【0012】バインダーとしては、アクリル系・ブチラール系・酢酸ビニル共重合体系・ポリアミド系・ポリエステル系・ポリウレタン系などの汎用合成高分子類が挙げられる。バインダーの含有量は、インキとしての流動性や基材への接着性、電極自体の導電性等によって決定され、総固形分の5～50%程度、さらに好ましくは10～35%である。

【0013】作用極は、少なくとも導電性物質、酵素、電子伝達物質、バインダーからなる導電性インキによって形成する。電極として働く導電性粉末としては、金属およびその酸化物、カーボン、グラファイト等の顔料が挙げられるが、コスト、表面の親水性およびインキ適性等よりカーボンブラックが好ましい。

【0014】インキ中に含有させる酵素は、酸化還元酵素であれば特に制限なく、たとえばグルコースオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ラクテートオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、ピルベートオキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ等が用いられる。添加量は、それぞれの酵素の活性に応じて変えることができる。酵素は高価であるため、性能を発揮できる範囲では含有量は少ない方が好ましい。

【0015】電子伝達物質としては、酸化還元酵素の電子伝達体として機能するレドックス化合物であれば特に制限されない。具体的には、フェロセンおよびその誘導体、ベンゾキノン、メチレンブルー、2,6-ジクロロインドフェノール、金属シアン化錯体等が挙げられる。これらを汎用バインダー中に分散し、酵素含有導電性インキとしたものを印刷方式によりリードを設けた絶縁性基板上の対極に対向させて設ける。なお、対極と参照極を別々に設ける場合には、本発明における対極を参照極単独としても用いることが可能である。その場合には、対極は作用極にて生じた電子の受容を行なう機能を持っていたらしく、一般に使用されるカーボン、金、白金、銀等にて形成すればよい。

【0016】

【作用】銀／塩化銀参照極では、銀の表面を塩化銀が薄く覆い、銀と塩化銀が接触して電子授受を行い易い状態を作っていることが理想的である。本発明の対極の構成によれば、銀層上に塩化銀層を塗工により重ね合わせることによって、理想に近い状態を形成する事ができ、そ

れ故に高い電位安定性を発現できる。また、導電性を付与する目的でカーボンブラックを混合し、電流測定性すなわち対極としての性能を向上させることができる。

【0017】〈実施例1〉血液中のグルコースを測定する酵素電極の例を示す。厚さ180μmのポリエチレンテレフタレートフィルム1上に、通常の真空蒸着法により、リード部と対極の下地銀層を兼ねた5000Åの銀蒸着膜2を形成した。カーボンブラック20重量部、塩化銀粉末20重量部、バインダーポリマーとしてポリエステル樹脂(東洋紡(株)製バイロン200)25%アセトン溶解液50重量部を、乳鉢中で十分に混練分散して塩化銀インキを作製し、先に形成した銀蒸着層2の対極部分上に、キャスティング方法にて塩化銀層3を設け、銀／塩化銀対極を形成した。

【0018】アセチレンブラック(旭電化工業(株)製)10g、フェリシアン化カリウム1g、カルボキシメチルセルロース10%溶液20g、ポリエステル樹脂エリーテルUE-3200(ユニチカ(株)製)の10%溶液40gおよび酢酸セロソルブ100gを3本ロールにて混合分散させた。これに、グルコースオキシダーゼ(関東化学(株)製)0.5gを0.1Mりん酸緩衝液に溶解したものを添加し、均一になるまで混合して得た酵素含有導電性インキを、上述の対極と対向する位置にスクリーン印刷を行い酵素含有導電性インキ層4を設けた。

【0019】その上に電極を一部残して絶縁性のポリマー層5を上に設けた。(図1)

このようにして作製した酵素電極を用いて、グルコース濃度と出力電流の関係を調べるためにグルコース濃度をいろいろ変えて調整したグルコース溶液を電極上に滴下し、作用極と対極との間に0.7Vの直流電圧を印加して30秒後に増加した電流を測定した。結果を図2に示す。グルコース濃度0～30mMの範囲で良好な応答を得られた。

【0020】〈実施例2〉銅貼したガラスエポキシ基板6からなるプリント配線板用基板の銅部分をエッチングして形成したリード部に連なる電極基礎部7の対極側にメッキ方式にて銀メッキ層8を形成した。メッキ時の電流密度は3A/cm²で、得られた銀メッキ厚は15μmである。その上に、カーボンブラック10重量部、塩化銀粉末50重量部、バインダーポリマーとしてポリエステル樹脂(東洋紡(株)製バイロン200)25%アセトン溶解液10重量部、アセトン50重量部を、ペイントシェーカーにて十分に分散して作製した塩化銀インキを、市販のインキジェットプリンターを改造した印刷装置にて吹き付け、乾燥して塩化銀層3を設け対極を形成した。

【0021】カーボンブラックーコンダクテックスSC(コロンビアンカーボン(株)製)15g、フェロセン2g、ブチラール樹脂エスレック(ユニチカ(株)製)

の5%溶液100gおよびブチルセロソルブ100gをペイントシェーカーにて3時間混合分散させた。これに、グルコースオキシダーゼ（関東化学（株）製）0.5gを0.1Mりん酸緩衝液5mLに溶解したものを添加し、均一になるまで混合して酵素含有導電性インキを作製した。この酵素含有導電性インキを用いて、電極基礎部7の作用極側にディスペンサー印刷方式によって、酵素含有導電性インキ層4を設けて電極部を形成する以外は実施例1と同様の構成で酵素電極を作成した。この酵素電極を用いて、グルコース濃度と出力電流の関係を調べるためにグルコース濃度をいろいろ変えて調整したグルコース溶液を電極上に滴下し、作用極と対極との間に0.4Vの直流電圧を印加して30秒後に増加した電流を測定した。結果を図4に示す。グルコース濃度0～50mMの範囲で良好な応答が得られた。

【0022】〈実施例3〉PETフィルムにてサンドイッチした紙9を基材として、リード部と対極の下地銀層を兼ねた銀ペースト層10を、銀ペースト（徳力化学研究所製シルベックス）を250メッシュのスクリーン印刷版を用いて印刷した。その上に、カーボンブラック20重量部、塩化銀粉末20重量部、ポリエステル樹脂（ユニチカ（株）製 エリートルUE-3200）20%エチルメチルケトン溶液20重量部をボールミルにて分散したインキを、上述のスクリーン版を用いて銀上に重ねて印刷し塩化銀層3を得た。作用極および絶縁カバーは、実施例2と同様にして形成した。

【0023】この酵素電極を用いて、グルコース濃度と出力電流の関係を調べるためにグルコース濃度をいろいろ変えて調整したグルコース溶液を電極上に滴下し、作用極と対極との間に0.4Vの直流電圧を印加して30秒後に増加した電流を測定した。結果を図6に示す。グルコース濃度0～50mMの範囲で良好な応答が得られた。

【0024】

【発明の効果】本発明の酵素電極は、対極が銀を主体とする成分からなる層の上に、塩化銀を主とする層を化学処理（湿式）でなく塗工により積層したので、塩化銀電極の理想に近い状態を形成することができ、それ故に高い電位安定性を持つ電極が形成できる。また、上記塩化銀を主とする層にカーボンブラックを含有させることにより導電性を向上させることができ、対極としての機能が充実し、作用極と対極の2極にて電極を形成できる。それゆえ小型電極とすることができる。さらに、作用極も印刷法で形成することによって、電極作製工程が全て乾式であるため保存安定性も高くなる。また、安価で大量生産に適している。

【0025】

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施例を示す酵素電極の平面図及びA-A断面説明図である。

【図2】実施例1の電極におけるグルコース濃度-増加電流値のグラフである。

【図3】本発明の別の実施例を示す酵素電極の平面図及びA-A断面説明図である。

【図4】実施例2の電極におけるグルコース濃度-増加電流値のグラフである。

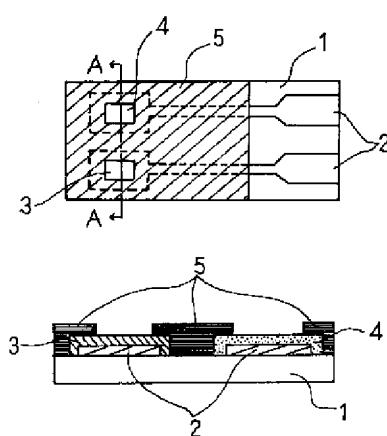
【図5】本発明のさらに別の実施例を示す酵素電極の平面図及びA-A断面説明図である。

【図6】実施例3の電極におけるグルコース濃度-増加電流値のグラフである。

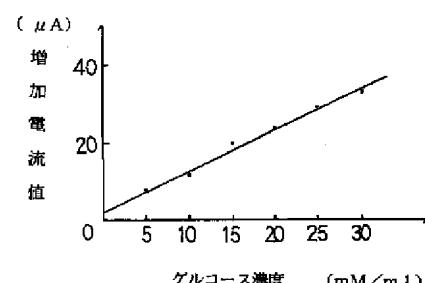
【符号の説明】

1…PET 2…銀蒸着層 3…塩化銀層 4…酵素含有導電性インキ層 5…絶縁性ポリマー層 6…ガラスエポキシ基板 7…電極基礎部 8…銀メッキ層
9…PETフィルムにてサンドイッチした紙 10…銀ペースト層

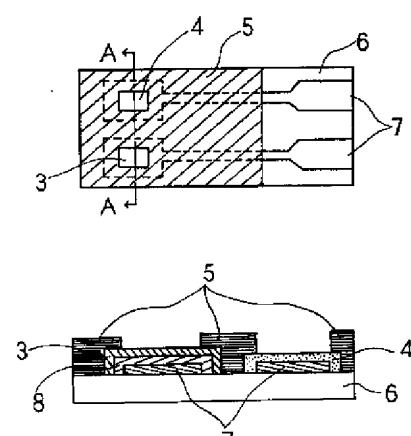
【図1】



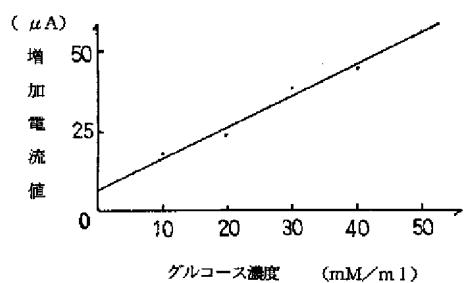
【図2】



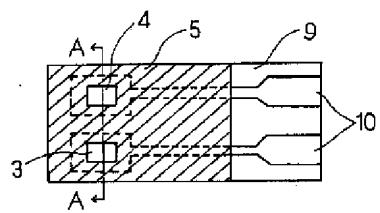
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

